狗和猴离体血液丙线照射后淋巴细胞酸性磷酸酯酶活力改变与辐射剂量的关系

顾 远 锡

（军事医学科学院放射医学研究所）

摘 要

本文用细胞化学的方法证实了在不加培养基的狗和猴离体血液中，淋巴细胞形态及Acp活力在24小时内仍能保持正常。在上述条件的基础上得出了离体血液丙线200、300、400及600拉德照射后，淋巴细胞Acp活力“4”分型改变与辐射剂量相关的方程。

文中还就离体血液丙线照射后Acp活力测定应用于生物剂量估算、某些抗放药物效价的验证以及照射后淋巴细胞Acp活力改变的机理作了初步讨论。

作者曾在丙线外照射中小剂量诊断指标的研究过程中，观察到家兔的外周血液淋巴细胞酸性磷酸酯酶（Acp）活力与受照剂量之间存在线性关系（顾远锡，1980）。以后又发现具有抗放作用的胰岛素对丙线照射狗的外周血液淋巴细胞Acp活力有一定的保护作用（顾远锡，1980）。这些结果提示，外周血液淋巴细胞Acp活力的测定有可能作为受照剂量的估算方法，并可用来判断某些抗放药物的效价。后经动物实验证实了上述设想（顾远锡，1981）。剂量估算方法和药物效价判断的应用，其主要对象是人，但是在人身上是无法进行整体照射情况下淋巴细胞Acp活力的剂量—效应关系的研究。进一步设想如果动物及人的离体血液经照射后，其淋巴细胞Acp活力与照射剂量之间仍存在线性关系，而且在给抗放药后取血照射仍能看出药物的保获作用，则这一生物指标不仅有可能用于整体动物实验而且可直接应用于人。本文的目的及内容主要观察狗和猴离体血液经丙线照射后淋巴细胞酸性磷酸酯酶活力改变与辐射剂量的关系。

本文承刘雪桐教授审阅，深表感谢
本文1981年10月27日收到，

实验材料及方法

（1）血样来源

狗血来自我院外购健康杂种狗、成年、雄性、体重15公斤左右。

猴血取自中国科学院昆明动物所饲养的健康恒河猴、成年、雄性、体重 5.1—10.8 公斤。

（2）离体血液照射方法：将装有不加培养基的正常新鲜血样的小试管置于37°C恒温水浴中的试管架上，水浴距辐照源1米，然后按下列条件进行照射。

a）辐照源：照射猴的为中国科学院昆明动物所 ^{60}Co源，照射狗的为我所 ^{60}Co源。

b）照射量率：用于猴的为68.9而狗则为104—107伦/分。

c）照射剂量及分组：

狗血及猴血样各分为0、200、300、400及600拉德5个组，每组4—5份平行血样。

（3）离体血液照射后保温时间：将照射后不加培养基的血样在37°C保温箱内放置12小时。对照血样也在同样条件下保温，经2.5或3、6、12及24小时后取出。

（4）血片制备：从保温箱内取出放置12小时的血样，制备薄血片、空气干躁。

（5）Acp活力测定采用 Goldberg & Barka法（1962)、方法及步骤详见前文（顾远锡，1980）

（6）Acp活力分型

根据淋巴细胞染色后，胞浆出现明显的粉红色颗粒的数目多少，将 Acp 活力分为“0”、“1”、“2”、“3”、“4、及“5”六种分型。计数100个淋巴细胞，算出上述分型各占的百分数，用以表示淋巴细胞Acp活力程度。六种分型中“4”分型与辐射剂量存在着正相关（顾远锡，1980）。因此选用“4”分型作为实验分析的依据。

实 验 结 果

（一）不加培养基的正常家兔离体血液淋巴细胞存活时间及Acp活力的改变

按照上述方法制备不加培养基的正常家兔离体血液涂片，观察淋巴细胞形态及 Acp

表1 正常家兔离体血37°C不同时间保温后的Acp活力

保温时间（小时）	Acp活力（%）					
	“0”	“1”	“2”	“3”	“4”	“5”
正常对照	77	13	7	2	1	0
2.5	75	13	7	4	1	0
6	78	16	4	1	1	0
12	63	15	16	5	1	0
24	74	17	5	3	1	0

活力，结果见表1。

显微镜检及表1结果指出不加培养基的离体血液中的淋巴细胞在37°C保温24小时后，无论从形态、Acp活力与保温前的正常对照血片相比，无明显的差别，它说明在此时间内虽然不加入培养基，离体血样中淋巴细胞仍然存活，其Acp活力正常。

（二）不加入培养基的家兔离体血液经800拉德丙线照射后Acp活力改变的动态过程。

取800拉德丙线照射后的家兔离体血液，按照上述方法，制备血片，观察淋巴细胞Acp活力的改变，结果见表2

表2　家兔离体血液800拉德丙线照射后Acp活力的动态改变

照后时间（小时）	Acp活力（%）					
	"0"	"1"	"2"	"3"	"4"	"5"
正常对照	92	6	1	1	0	0
立即	63	13	9	7	7	1
3	52	13	17	7	9	2
6	43	15	18	8	15	1
12	33	12	22	9	18	6
24	43	17	14	7	16	3

从表2结果可见家兔离体血液经800拉德丙线照射后，Acp活力"0"分型逐渐减少，"4"分型逐渐增加，二者的变化在照后12—24小时达到高峰。这就为离体照射血样37°C保温12小时后再进行细胞化学测定提供了根据。

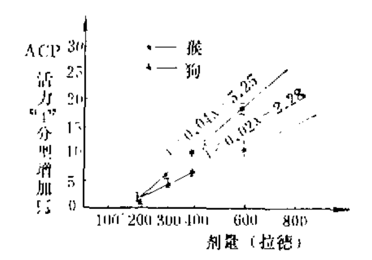
（三）狗及猴离体血液经不同剂量丙线照射后淋巴细胞活力改变及其与照射剂量的关系。

以上述（一）、（二）二项实验结果为依据，按已建立的Acp活力测定方法（顾远锡，1980），观察了不同剂量丙线照射对狗和猴离体血液淋巴细胞Acp活力的影响，并分析所产生的Acp活力改变与照射剂量间存在的关系，结果见表3、附图。

表3　狗与猴离体血液经不同剂量丙线照射后淋巴细胞Acp活力"4"分型的改变

照射剂量（拉德）	Acp活力"4"分型（%）	
	狗	猴
对照	0	0
200	2.1±0.3(9)	2.2±0.5(9)
300	4.5±0.5(8)	6.2±0.6(9)
400	6.2±0.7(8)	11.6±1.1(9)
600	10.9±1.5(7)	19.0±1.0(9)

注　括号内数字系指动物数



附图　狗及猴离体血液丙线照射后淋巴细胞Acp活力"4"分型的改变

从表3及附图结果可见狗及猴离体血液经不同剂量丙线照射后，所产生的Acp活力"4"分型的改变与照射剂量间皆存在着较好的线性关系，因而可以得出相应的方程。

讨　　论

文中有关不加培养基的正常家兔离体血液淋巴细胞存活时间，以及经800拉德丙线照射后Acp活力改变的动态过程指出，离体血液在37°C保温24小时后，其淋巴细胞的形态及Acp活力都是正常的。经800拉德丙线照射后Acp活力改变与整体照射所得的结果相似（顾远锡，1980）。淋巴细胞Acp活力"4"分型在照后逐渐增高，12—24小时达到高峰。它为离体实验不加培养基及照后选择合适的保温时间提供了依据。这表明在观察辐射效应的离体实验中，照后24小时内离体血样不加入培养基，对淋巴细胞存活没有明显的影响，同时可简化实验条件及操作步骤，Bevan等人（1980）的报导也间接证明了不加培养基对离体血液淋巴细胞Acp活力没有影响。有关离体血液淋巴细胞丙线照射后，Acp活力高峰值的出现，这一现象有待作进一步的研究。

探索原子战争条件下受照伤员的分类诊断是外照射中小剂量生物诊断指标研究的主要目的，用细胞化学方法作为生物诊断指标者在国内外文献中尚未见有报导，有关家兔整体接受^{60}Co照射及核弹瞬时辐射所致的Acp活力改变（顾远锡，1980）可以推算受照剂量，本文得出的狗及猴离体血液照射后淋巴细胞Acp活力与剂量间的线性关系，也可以用来推算受照剂量。

作者曾应用离体猴血观察不同剂量丙线照射后淋巴细胞Acp活力改变和肌肉注射抗放药物"雌激素"对Acp活力的影响（顾远锡，1981）结果见表4。

通过离体照射血样Acp活力测定，上述结果说明肌肉注射"雌激素"对猴离体血液淋巴细胞Acp活力表现出与整体实验结果相同的保获作用(顾远锡，1981)。但从有效抗放药物"雌激素"人体药效验证出发，离体照射血样Acp活力测定较整体照射血样Acp活力测定更具有实际意义。因为有效抗放药物的药效最后必须过渡到人，才能加以评定，而人又是不能接受照射的。这一问题只有通过离体照射实验加以解决。因此，本文建立的狗和猴以及前已建立的人离体血液淋巴细胞Acp活力剂量——效应曲线的方程，在有效抗放药物"雌激素"及其他激素类药物的人体药效验证有一定的应用价值。

表4 "雌激素"肌注猴血300、600拉德丙线离体照射后淋巴细胞Acp活力"0"分型的改变

组别	动物数	淋巴细胞Acp活力"0"分型%
健康对照	3	73.1±0.5
健康猴血离体照射		
300拉德	9	40.6±4.9*
600拉德	9	25.9±2.9*
肌注"雌激素"猴血离体照射		
300拉德	18	76.4±6.5**
600拉德	18	72.0±9.2**

* $P<0.001$（与健康对照组比） ** $P<0.001$（与健康猴血离体照射组比）

根据过去国外报导（Rene等，1971；Aikman等，1974）、我所肌注胰岛素对700拉德丙线全身照射狗（顾远锡，1980）和照前肌注雌激素对600拉德丙线全身照射猴外周血液淋巴细胞Acp活力的早期保获作用（顾远锡，1981），作者认为整体照射引起的淋巴细胞Acp活力升高很明显与溶酶体膜损伤有关。Harris等（1966）曾报导家蛋兔白细胞在离体情况下受1—50千拉德丙线照射后，白细胞溶酶体内水解酶渗出增加，白质渗出也有平行的增加。本实验中狗及猴离体血液经200—600拉德丙线照射后，Acp活力随着照射剂量增加而增强。可以认为这种酶活力的增强也是与离体血液中淋巴细胞溶酶体膜损伤有关，其损伤程度在不同种属动物是有差别的。实验结果表明不同动物离体血液丙线照射后Acp活力改变不同（顾远锡，1980）。这种差别可以从狗、猴及人的离体血液淋巴细胞Acp活力的剂量—效应曲线的方程中清楚地看到。狗的方程中斜率（b）为0.02，而猴和人的斜率则为0.04，约为狗的2倍。它说明后者的变化较为显著，对照射的反应较为灵敏，上述差别对离体血液照射后淋巴细胞Acp活力测定应用于人是有利的。

参 考 文 献

顾远锡 1980 放射医学与防护3:29。

顾远锡 1981 军事医学科学院院刊2:153。

Aikman A. A. et al: 1974 *Rad. Res.* 57: 46.

Bevan A. et al. 1980 *Scand. J. Immunol.* 11(2): 223.

Goldberg A. F. et al. 1962. *Nature* 195: 297.

Harris J. W. et al. 1966 *Rad. Res.* 27: 766.

Rene A. A. et al. 1971. *Lab. Invest.* 25(3): 230.

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE DOSAGE OF *IN VITRO* IRRADIATION & THE CHANGE OF LYMPHOCYTE ACP ACTIVITY OF DOG & MONKEY BLOOD

Gu Yuan Xi

(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences)

In the absence of a routine culture medium, the morphology and ACP activity of dog and monkey blood lymphocytes were proved to be normal cytochemically within 24 hour incubation. After in vitro irradiation the blood lymphocyte ACP activity of dog and monkey was determined. The doses used in calibration were 200, 300, 400 and 600 rads respectively. A regression equation was obtained from the correlation between the lymphocyte ACP "4" type and their radiation dosage.

In addition, the applicability of ACP activity determination after in vitro irradiation to the biological dosimetry, to the evaluation of the efficacy of certain radioprotectors and the mechanism of ACP activity changes after in vitro irradiation were preliminarily discussed.